

氏 名	のう 直 川 匡 晴
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2061 号
学位授与の日付	平 成 11 年 1 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Leukotriene B4-activated human endothelial cells promote transendothelial neutrophil migration (ロイコトリエンB4刺激内皮細胞による好中球の血管外遊走誘導) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 光 山 正 雄 教 授 桂 義 元 教 授 内 山 卓

### 論 文 内 容 の 要 旨

好中球は生体防御の一次機構において中心的な役割を担っている。この機能を発現するために、好中球が内皮細胞と接着すること、そして血管外に遊走 (transendothelial migration : TEM) することは重要な一過程である。好中球の走化機能を誘導する因子の一つとして、ロイコトリエンB4 (LTB4) がある。LTB4は、アラキドン酸の5-リポキシゲナーゼ経路の代謝物で、さまざまな炎症巣で確認されている。最近、LTB4はin vivoおよびin vitroの系で、同じ好中球の遊走因子であるfMLPに比べ高いTEM活性を誘導することが報告された。この機序を明らかにする目的で、LTB4の内皮細胞に対する直接作用について検討した。

TEM測定にはtranswell (Costar) の膜上にヒト臍帯静脈由来内皮細胞 (HUVEC) のmonolayerを作成して用いた。上層に好中球を加え一定時間後内皮細胞層、filter層を通過し、下層に落下した好中球数を倒立顕微鏡下に算定した。遊走活性の測定には下層のみに遊走因子を加え、random migrationの測定には上層・下層いずれにも遊走因子を加えた。内皮細胞を介さない遊走能とrandom migrationの測定は、アガロース法とマルチチャンバー法によった。

アガロース法とマルチチャンバー法で測定した遊走活性は、fMLPの方が有意に高かった。ところが、TEMによる遊走活性はLTB4の方が有意に高かった。random migrationについて両者を比較すると、遊走活性と同様にマルチチャンバー法ではfMLPの方が有意に高く、TEMではLTB4の方が有意に高かった。これらの所見は、LTB4が内皮細胞に直接作用することを示唆した。

HUVECをLTB4で前処理し、洗浄後上層に好中球を添加した時、未処理では認められなかったTEM活性が強く誘導された。HUVECをLTB4で前処理するさらに前にLTB4の受容体抗体で処理すると、好中球のTEMは誘導されなかった。一方LTB4受容体抗体で処理した好中球は、LTB4処理HUVECに対して高いTEM活性を示した。これらの所見より、LTB4は直接内皮細胞に作用して好中球のTEMを誘導することが確認された。

なおLTB4処理HUVECに対する好中球のTEMは、抗ICAM-1抗体 (84H10) で抑制されたが、LTB4はHUVECのICAM-1発現に有意な変化を起さないことがFACSで確認された。

IL-1 $\beta$ やTNF- $\alpha$ がHUVECに作用して、好中球のTEMを誘導することが明らかにされている。この機序として、IL-8とPAFの関与が示唆されている。しかし、LTB4はIL-8の放出を誘導しなかった。またLTB4はHUVECに対して、PAF放出を誘導しないことが報告されており、LTB4による好中球のTEM誘導は、IL-1 $\beta$ やTNF- $\alpha$ とは異なる機序を介すると考えられた。

LTB4は種々の炎症性サイトカインの作用により、さまざまな白血球や内皮細胞から産生・放出されることが報告されている。これまでLTB4は遊走因子としてTEMを誘導すること、また内皮細胞に作用して好中球の接着を誘導することが知られていたが、今回の成績からLTB4は、内皮細胞に直接作用してTEMを誘導することが明らかとなった。

## 論文審査の結果の要旨

好中球が血管内から組織に遊出する時、好中球と内皮細胞の相互作用は重要な一過程である。本研究では、好中球の走化因子の一つであるロイコトリエンB<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) が内皮細胞に直接作用し、好中球の遊出を誘導することを明らかにし、またその機序についても一部解析した。

好中球の内皮細胞からの遊出 (TEM) 測定はtrans-well法によった。内皮細胞をLTB<sub>4</sub> で前処理し洗浄後好中球を添加した時、未処理では認められないTEM活性が誘導された。LTB<sub>4</sub> 受容体拮抗剤の内皮細胞並びに好中球に対する効果から、LTB<sub>4</sub> が直接内皮細胞に作用し好中球のTEMを誘導することを確認した。またLTB<sub>4</sub> 誘導TEMは、抗ICAM-1抗体で抑制されたが、LTB<sub>4</sub> は内皮細胞のICAM-1発現に有意な変化を起こさなかった。IL-1 $\beta$ やTNF- $\alpha$ が内皮細胞に作用して好中球のTEMを誘導しする機序としてIL-8とPAFの関与が報告されている。しかしLTB<sub>4</sub>はIL-8の放出を誘導しないことを確認した。またLTB<sub>4</sub>は内皮細胞に対してPAF放出を誘導しないことが報告されており、LTB<sub>4</sub>による好中球のTEM誘導は、IL-1 $\beta$ やTNF- $\alpha$ とは機序が異なると考えられた。

本研究は好中球の血管外遊出の機序解明に貢献し、炎症性疾患等の病態解明に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は平成10年11月25日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。